

# 전북지역 송아지 설사 유래 병원성 대장균의 병원성 인자 및 다제 내성 패턴

곽길한<sup>1†</sup> · 김선민<sup>2†</sup> · 유영주<sup>2</sup> · 유정희<sup>2</sup> · 임미나<sup>1</sup> · 장유정<sup>1</sup> · 허진<sup>2\*</sup>

전라북도 동물위생시험소 서부지소<sup>1</sup>, 전북대학교 수의과대학 수의공중보건학실<sup>2</sup>

## Virulence factors and multi-drug resistant patterns of pathogenic *Escherichia coli* isolates from diarrheic calves in Jeonbuk

Kil-Han Kwak<sup>1†</sup>, Seon-Min Kim<sup>2†</sup>, Yeong-Ju Yu<sup>2</sup>, Jeong-Hee Yu<sup>2</sup>, Mi-Na Lim<sup>1</sup>, Yu-Jeong Jang<sup>1</sup>, Jin Hur<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Animal Health Institute of Jellabukdo, Jeongeup 56134, Korea

<sup>2</sup>Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Jeonbuk National University, Iksan 54596, Korea

Received December 17, 2021  
Revised December 24, 2021  
Accepted December 24, 2021

Corresponding author:

Jin Hur

E-mail: hurjin@jbnu.ac.kr

https://orcid.org/0000-0003-2658-0747

<sup>†</sup>These first two authors contributed equally to this work.

Pathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) is one among the most important agents of diarrhea in calves. From January to December 2021, 108 isolates from feces of calves with diarrhea were investigated for enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), shiga toxin-producing *E. coli* (STEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), and enteroinvasive *E. coli* (EIEC) using real-time PCR. In addition, the genes for F5, F17 and F41 fimbriae were detected by PCR. The most frequently isolated pathotypes were EPEC/STEC (29 isolates), and ETEC/EPEC/STEC (29 isolates). ETEC/EPEC, and ETEC/STEC were also found in 10 isolates. EPEC, STEC, and ETEC were detected in 13, 11, and 6 respectively. EAEC, and EIEC was not detected. Antimicrobial resistance test was carried out by agar disc diffusion method with 14 antimicrobials. Among 108 pathogenic *E. coli* isolates, 107 isolates were resistant to at least one of 14 antibiotics used in this study, 99 (91.7%) were resistant to two or more antimicrobials, and a single remarkable isolate was resistant to 14 antimicrobials. The isolates were primarily resistant to penicillins, streptomycin, tetracycline, ceftiofur, Trimethoprim/sulfamethoxazole, Kanamycin, and Ciprofloxacin. The high rate of resistance in pathogenic *E. coli*, sometimes to multiple drugs, may complicate future options for treating human infections. These results may be used for diagnosis and therapeutic purposes in calves with diarrhea.

**Key Words:** Diarrheic calves, *Escherichia coli*, Multi-drug resistance, Virulence factor, Shiga toxins

### 서론

대장균은 송아지에서 설사의 중요한 원인 중 하나이며, 높은 폐사율과 성장 저하로 인해 전 세계적으로 축산업에서 경제적 으로 큰 손실을 주고 있다(Lorenz 등, 2011). 설사 및 급성 위 장염을 일으키는 대장균은 세균이 가지고 있는 독성 특성, 부착 인자 그리고 숙주에서 나타나는 임상증상에 따라 6가지 병원

성형으로 나눌 수 있다. 즉, 장독소형 대장균(enterotoxigenic *E. coli*; ETEC), 장병원성 대장균(enteropathogenic *E. coli*; EPEC), 시가독신 생성 대장균(Shiga toxin-producing *E. coli*; STEC), 장응집성 대장균(enteroaggregative *E. coli*; EAEC), 장침투성 대장균(enteroinvasive *E. coli*; EIEC) 그리고 장확산부착성 대장균(diffusely adherent *E. coli*; DAEC) 등 6가지 병원성형으로 구분할 수 있다(Croxen 등, 2013).

이 6가지 병원성형(pathotype) 중에서 장독소형 대장균(ETEC)은 송아지 설사의 주요 원인균 중 하나로 알려져 있지만 다른 5가지 병원성형은 임상증상이 없는 송아지에서뿐만 아니라 설사 송아지 분변에서도 자주 분리되는 것으로 보고되고 있다(Kolenda 등, 2015). 장독소형 대장균의 주요 병원성 인자는 펙트리아 부착인자(fimbrial adhesins)와 장독소(enterotoxins)로, 펙트리얼 부착인자로는 F5, F17, F41이 알려져 있으며 이들 부착인자가 소장의 상피 표면에 부착한 후 대장균이 증식하면서 이열성[heat-labile (LT)] 장독소와 내열성[heat-stable (STa와 STb)]장독소를 분비한다. 이 들 독소로 인해 숙주는 장 상피세포로부터 액체와 전해질을 분비하여 결국에는 설사를 유도하게 된다(Vu-Khac 등, 2007; Guler 등, 2008; Vu-Khac와 Cornick, 2008). 이 세 펙트리얼 부착인자 중에서 F5와 F41 병원성 인자는 동물에서 연령이 늘어날수록 검출빈도가 비록 줄어들기는 하지만, 설사와 관련이 있다고 알려져 있으며(Toledo 등, 2012; Kolenda 등, 2015), F17 펙트리얼 부착인자는 설사 및/또는 패혈증 증상을 보이는 동물과 사람 모두에서 분리되고 있다(Le Bouguence와 Bertin, 1999).

장병원성 대장균(EPEC)은 소장 상피에서 세균의 부착-소멸적 손상(attaching-effacing)을 주 기전으로 하는 병원성 대장균을 말한다. Locus of enterocyte effacement (LEE)로 알려져 있는 염색체상의 병원성 섬(pathogenicity island)에 위치하고 있는 *eae* 유전자와 EAF (EPEC adherence factor)라고 불리는 plasmid에 위치한 *bfp* 유전자는 EPEC임을 입증하는 주 유전자로 사용되고 있다(Nataro와 Kaper 등, 1998). 하지만 EPEC 중에서도 *eaeA*<sup>+</sup>과 *bfpA*<sup>+</sup>인 경우에는 전형 EPEC (typical EPEC)이라 불리며, *eaeA*<sup>+</sup> *bfpA*<sup>-</sup>인 경우에는 비전형 EPEC (atypical EPEC)라고 한다(Kaper, 1996).

송아지 설사의 원인체로서 시가독소 생성 대장균(STEC)의 역할은 아직까지 확실하지 않다. 하지만 송아지 STEC 감염 사례는 많이 보고되고 있다(Nguyen 등, 2011; Kolenda 등, 2015; Jeong 등, 2020; Ryu 등, 2020). 사람에게 있어서 STEC에 감염되면 결과적으로 출혈성 결장염과 용혈성 요독 증후군이 발생할 수 있다(Griffin과 Tauxe, 1991; Fakih 등, 2017). STEC는 Shiga toxins, 즉 Shiga toxin 1 (Stx1)과 Shiga toxin 2 (Stx2)를 생성하며, 더불어 intimin (*eae* 유전자에 의해 암호화 되어있음) 등과 같은 여러 가지 병원성 인자를 발현한다(Nataro와 Kaper, 1998). 가축, 특히 소가 STEC의 가장 중요한 보균 동물로 알려져 있다(Ryu 등, 2020). 하지만 STEC는 소에서 질병과 관련이 없으며 오히려 건강한 상태에서 더 자주 검출되는 것으로 알려져 있다(Kolenda 등, 2015). 따라서 STEC 보균

건강한 소는 사람에게 잠재적인 위험 요인이 될 수 있다.

장응집성 대장균(EAEC)은 장상피에서 대장균이 층층이 쌓인 벽돌처럼 응집하여 상피에 손상을 일으켜 염증을 유발하며, *aggR* 레귤론은 EAEC의 독성인자 및 병원성과 관련이 있는 플라스미드의 유전자를 조절하는 것으로 알려져 있다(Okhuysen과 Dupont, 2010). 장침투성 대장균(EIEC)은 *Shigella* spp.와 발병기전이 거의 동일하며 EIEC 균주와 *Shigella* spp.의 침투성에 관여하는 유전자는 *ipaH* 유전자이다(Sethabutr 등, 2000).

항생제는 가축에서 질병 예방 및 성장촉진을 위해 사료 첨가제로 사용되어 왔다(Hays와 Muir, 1979). 하지만 항생제 오남용으로 인해 식육에서의 항생제 잔류와 내성균 출현은 국제적인 문제로 대두되었다(Han 등, 2014). 더불어 다제 내성균 출현으로 인한 질병 치료를 위해 항생제의 과다 사용, 장기간의 치료에 따라 항생제 잔류 등 안전한 먹거리에 대한 사회적인 관심과 그 중요성이 점차 증가하게 되었다(Kim 등, 1997; Han 등, 2015). 따라서 소를 포함한 가축에서 다제 내성균에 대한 모니터링은 중요하다 할 수 있다.

따라서 이러한 문제를 해결하기 위해서 송아지 설사 분변으로부터 분리된 병원성 대장균 분리주를 대상으로 ETEC (F5, F17, F41, ST, LT) 및 EPEC (*eaeA*, *bfpA*), STEC (VT1, VT2), EAEA (*aggR*), 그리고 EIEC (*ipaH*) 관련 병원성 유전자 검출과 더불어 항생제 감수성 검사를 수행하여 다제 내성 패턴을 조사하여 국내에서 송아지 설사 유발 대장균의 특성을 분석하고자 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 송아지 설사 시료

2021년 1월부터 12월까지 전북지역 소 사육농가에서 병성감정으로 의뢰된 송아지 설사분변 108 분리주를 대상으로 병원성 대장균의 특성 및 다제 내성 패턴을 조사하였다.

### 병원성 대장균 분리 및 동정

의뢰된 송아지 설사 가검물을 EMB agar에 평판 도말하여 37°C에서 24시간 배양하여 대장균 특유의 금속광택을 나타내는 집락을 다시 Blood agar에 재접종하여 용혈여부를 확인하였다. 혈액배지에서 순수 분리된 세균을 VITEK 2 compact (BioMerieux, France)로 동정하였다.

**병원성 관련 유전자 검출**

분리 동정된 대장균의 genomic DNA는 일반적인 boiling 법을 이용하여 추출하였다. 병원성 대장균의 병원성형 분포를 조사하기 위한 ETEC (ST, LT) 및 EPEC (*eaeA*, *bfpA*), STEC (VT1, VT2), EAEC (*aggR*) 그리고 EIEC (*ipaH*) 검출은 PowerChek™ Diarrheal *E. coli* 4-plex Real-time PCR Kit I과 II (Kogenebiotech, Korea)를 이용하여 수행하였으며, ETEC와 관련 있는 F5, F17 그리고 F41 펩브리얼 부착인자 유전자는 Table 1에서 제시한 프라이머를 사용하여 PCR로 검출하였다.

**항생제 감수성 검사**

송아지 설사 분변에서 분리 대장균 108 분리주를 대상으로 항생제 감수성 검사를 수행하였다. 항생제 감수성 검사는 NCCLS (National committee for clinical laboratory standards)에서 추천하는 디스크 확산법으로 수행하였다(CLSI, 2008). 항생제 디스크는 BBL sensi-disc (Becton Dickinson, USA)로 ampicillin (Am), amoxicillin/clavulanic acid (Amc), azithromycin (Azm), cefoxitin (Fox), ceftiofur (Eft), ceftriaxone (Cro), chloramphenicol (C), ciprofloxacin (Cip), gentamicin (Gm), kanamycin (K), nalidixic acid (Na), streptomycin (S), tetracycline (Te), trimethoprim/sulfamethoxazole (Sxt) 등 14종의 항생제에 대한 감수성을 조사하였다.

**결 과**

**병원성 대장균의 병원성형(pathotype)**

Table 2에서 보는 바와 같이, 송아지 설사 분변에서 분리된 108 분리주에 대한 병원성형에 대한 조사를 수행하여 본 결과, 108 분리주 중에서 EPEC와 STEC, 그리고 ETEC 및 EPEC

와 STEC와 같은 복합적인 검출이 각각 29 분리주에서 검출되었으며, EPEC 단독은 13 분리주에서, STEC는 11 분리주에서, ETEC와 EPRC 그리고 EPEC와 STEC은 각각 10 분리주에서, ETEC는 6 분리주에서 확인되었다. 하지만 EAEC와 EIEC는 분리주는 검출되지 않았다.

**병원성 대장균의 병원성 인자 분석**

병원성 인자를 암호화하는 유전자에 대한 검출 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 즉, *eae* 유전자는 81 분리주에서 검출되어 이 실험에서 조사한 병원성 인자 중 가장 많은 분리주에서 보유하고 있었으며, 그 다음으로는 *stx1*은 55 분리주에서 검출되었으며 F17과 *stx2* 유전자는 각각 48 분리주에서 검출되었다. 더불어 *stx1*과 *stx2* 유전자를 동시에 보유한 분리주도 30건이 관찰되었고, STa 유전자는 21 분리주에서, F5는 19 분리주에서, F41 유전자는 한 분리주 각각 검출되었다. 병원성 유전자형을 보면, *eae*와 *stx1*, *eae* 단독, *eae*와 *stx1* 및 *stx2* 유전자를 동시에 가지고 있는 분리주는 각각 14 분리주, 13 분리주, 12 분리주로 관찰되는 등 국내 송아지 설사에서 분리된 병원성 대장균은 전형 병원형의 패턴을 보이는 경우보다 혼합된 형태의

**Table 2.** Pathotypes of pathogenic *E. coli* isolates from diarrheic calves

Pathotypes <sup>※</sup>	Number of pathogenic <i>E. coli</i> isolates	Rate (%)
ETEC	6	5.6
EPEC	13	12.0
STEC	11	10.2
ETEC+EPEC	10	9.3
ETEC+STEC	10	9.3
EPEC+STEC	29	26.8
ETEC+EPEC+STEC	29	26.8
Total	108	100

<sup>※</sup>ETEC, enterotoxigenic *Escherichia (E.) coli*; EPEC, enteropathogenic *E. coli*; STEC, Shiga toxin-producing *E. coli*.

**Table 1.** PCR primers used in this study and their product sizes

Target gene	Primer	Sequences	Size of product (bp)	References
<i>f5</i>	F5-F	TATTATCTTAGGTGGTATGG	314	Franck et al, 1998
	F5-R	GGTATCCTTTAGCAGCAGTATTTTC		
<i>f17</i>	F17-F	GGGCTGACAGAGGAGGTGGGGC	411	Van Bost et al, 2001
	F17-R	CCC GGCGACA ACTTCATCACCGG		
<i>f41</i>	F41-F	GCATCAGCGGCAGTATCT	380	Franck et al, 1998
	F41-R	GTCCCTAGCTCAGTATTATCACCT		

**Table 3.** Virulence genotype of pathogenic *Escherichia coli* isolates from diarrheic cattle

Virulence genes	Number of isolates	Rate (%)
<i>F17</i>	1	0.9
<i>st</i>	2	1.9
<i>eae</i>	13	12.1
<i>stx1</i>	3	2.8
<i>stx2</i>	3	2.8
<i>F17+st</i>	2	1.9
<i>F17+eae</i>	5	4.6
<i>F17+stx1</i>	2	1.9
<i>st+stx2</i>	1	0.9
<i>st+eae</i>	1	0.9
<i>eae+stx1</i>	14	13
<i>eae+stx2</i>	3	2.8
<i>stx1+stx2</i>	5	4.6
<i>F5+F17+st</i>	1	0.9
<i>F5+F17+eae</i>	1	0.9
<i>F5+F17+stx1</i>	2	1.9
<i>F5+F17+stx2</i>	1	0.9
<i>F5+eae+stx1</i>	1	0.9
<i>F17+st+eae</i>	2	1.9
<i>F17+eae+stx1</i>	5	4.6
<i>F17+eae+stx2</i>	4	3.7
<i>F17+stx1+stx2</i>	2	1.9
<i>st+eae+stx1</i>	1	0.9
<i>st+eae+stx2</i>	1	0.9
<i>eae+stx1+stx2</i>	12	11.1
<i>F5+F17+st+eae</i>	1	0.9
<i>F5+F17+st+stx2</i>	1	0.9
<i>F17+F41+eae+stx2</i>	1	0.9
<i>F17+st+eae+stx1</i>	1	0.9
<i>F17+st+eae+stx2</i>	1	0.9
<i>F17+st+stx1+stx2</i>	1	0.9
<i>F17+eae+stx1+stx2</i>	3	2.8
<i>F5+F17+F41+eae+stx1</i>	1	0.9
<i>F5+F17+st+eae+stx1</i>	2	1.9
<i>F5+F17+st+eae+stx2</i>	1	0.9
<i>F5+F17+eae+stx1+stx2</i>	5	4.6
<i>F5+F17+st+eae+stx1+stx2</i>	2	1.9
합계	108	100

다양한 비전형 병원성 유전자가 주로 검출되었다. 하지만 *bfpA*, *aggR* 그리고 *ipaH* 유전자를 보유한 분리주는 검출되지 않았다.

### 다제 내성 패턴

송아지 설사 분변에서 분리된 108 분리주에 대한 항생제 감수성 검사를 수행하여 본 결과, 108 분리주 중에서 89 분리주는

Am에 내성으로 관찰되었으며, 85 분리주는 S에 내성이 있는 것으로 관찰되었으며, 그 다음으로는 Te, Eft, Sxt, K와 Cip, K, C, Na, Cro, Gm, Amc, Azm 순으로 내성이 관찰되었다(Table 4).

다제내성 패턴을 살펴보면, 단지 1 분리주를 제외한 107 분리주는 이 실험에 사용된 항생제 14종에 대해 적어도 하나 이상의 항생제에 대해 내성이 관찰되었다(Table 5). 더불어 108 분리주 중 1 분리주에서 이 실험에 사용된 14종 모두에 대해서 내성이 관찰되었으며, 91 분리주는 적어도 3종 이상의 항생제에 대해 내성이 관찰되었다. 83형의 다제내성 패턴 중에서 가장 빈번하게 관찰된 패턴은 108 분리주 중에서 6 분리주에서 분리된 다제내성 패턴 7 type인 AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAzm이었다(Table 5).

## 고 찰

대장균은 송아지에서 설사를 유발하는 가장 일반적인 세균 중 하나로 알려져 있으며, 전 세계적으로 높은 이환율과 폐사로 인해 양축농가에 경제적으로 막대한 피해를 주고 있는 병원체 중 하나이다. 하지만 국내에서는 대장균에 의한 송아지 설사에 대한 연구가 많지 않은 실정이다(Chae 등, 2004; Lee 등, 2008; Hur 등, 2013; Jeong 등, 2020). 따라서 설사 증상이 보인 송아지로부터 분변을 채취하여 대장균을 분리 동정하여 설사 관련 병원성 유전자를 바탕으로 한 병원성형(pathotype)과 병원성 유전자형(genotype)을 분석하고 항생제 감수성 검사를 수행하여 다제 내성 여부 및 다제 내성 패턴을 조사하여 축산 농가에 도움을 주고자 연구를 진행하였다.

전북지역에서 설사하는 송아지로부터 의뢰받은 가검물로부터 분리된 108 분리주를 대상으로 병원성 인자와 관련된 유전자를 기반으로 하여 병원성형(pathotype)을 조사하였다. 송아지에서 설사를 일으키는 대장균의 병원성형(pathotype) 중에서 ETEC가 가장 중요한 병원성형이며 그중에서도 STa 독소를 분비하는 F5와/또는 F41를 발현하는 대장균이라는 것은 잘 알려져 있다(Nagy와 Fekete, 1999). 하지만 이번 연구에서 *f5*와 *f41* 유전자를 보유한 분리주는 108 분리주 중 17%와 0.9%에서만 검출되었다. 흥미롭게도 *f5* 유전자를 보유한 19 분리주 중 11 분리주는 STa 유전자를 보유하고 있지 않았지만 무려 16 분리주는 시가 독소 유전자를 가지고 있었다. 더욱이 시가 독소 유전자를 보유한 16 분리주 중 6 분리주는 STa 유전자를 같이 보유하고 있었다. 놀라운 것은 *f41* 유전자는 108 분리주 중 단 한 균주에서 분리되었으며, 이 분리주는 다른 부착인자와 시가 독소 유전자를 같이 보유하고 있었다. 이상의 결과는 송아지에서

**Table 4.** Antimicrobial susceptibility of 108 pathogenic *Escherichia coli* isolates from diarrheic calves

Antimicrobial	No. of isolates (%)		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Aminoglycosides			
Gentamicin	28 (25.9)	26 (24.1)	54 (50.0)
Kanamycin	54 (50.0)	39 (36.1)	15 (13.9)
Streptomycin	85 (78.7)	15 (13.9)	8 (7.4)
β-lactam cepheems			
Cephamycins			
Cefoxitin	11 (10.2)	9 (8.3)	88 (81.5)
Third-generation cephalosporins			
Ceftiofur	65 (60.2)	35 (32.4)	8 (7.4)
Ceftriaxone	33 (30.6)	48 (44.4)	27 (25.0)
β-lactam : penicillins			
Penicillins			
Ampicillin	89 (82.4)	16 (14.8)	3 (2.8)
Fluoroquinolones			
Ciprofloxacin	54 (50.0)	47 (43.5)	7 (6.5)
Folate pathway inhibitors			
Trimethoprim/sulfamethoxazole	55 (50.9)	7 (6.5)	46 (42.6)
Macrolides			
Azithromycin	18 (16.7)	19 (17.6)	71 (65.7)
Penicillins+β-lactamase inhibitors			
Amoxicillin/Clavulanic acid	20 (18.5)	68 (63.0)	20 (18.5)
Phenicol			
Chloramphenicol	50 (46.3)	5 (4.6)	53 (49.1)
Quinolones			
Nalidixic acid	35 (32.4)	41 (38.0)	32 (29.6)
Tetracyclines			
Tetracycline	67 (62.0)	3 (2.8)	38 Anti (35.2)

설사를 유발하는 새로운 표현형이 출현하고 있음을 보여주는 결과라 생각된다. Moon 등(1999)은 많은 수의 대장균이 병원성과 관련된 펌브리얼 부착인자 관련 유전자는 있지만 독소 유전자는 보유하고 있지 않았다고 보고하였다. F17 펌브리아는 설사나 패혈증 증상을 보이는 송아지에서 자주 분리된다(Nguyen 등, 2011; Ryu 등, 2020). 이 연구에서도 44.4%의 분리주에서 *f17* 유전자를 보유하고 있어 F17 펌브리아가 설사하는 송아지의 12%에서 19%까지 분리되었다는 기존 연구 결과(Shimizu 등, 1987; Osek 등, 2000; Van Bost 등, 2001; Nguyen 등, 2011)에 비해 매우 높은 수준으로 분리되었다. 놀랍게도 ETET 관련 펌브리아를 가진 50 분리주 중에서 무려 36 분리주(72%)에서 시가 독소를 가지고 있었다. 이 결과는 매우 놀라운 것이며 Nguyen 등(2011)이 보고한 것처럼 매우 드문 결과로 지속적인 조사 연구가 필요함을 보여주는 연구 결과이다.

장병원성 대장균(EPEC)은 *eae* 유전자와 *bfp* 유전자에 의해 주로 확인되고 있으며 이 두 유전자를 보유하고 있으면 전형

EPEC (typical EPEC)로, *eaeA* 유전자만을 보유하고 있으면 비전형 EPEC (atypical EPEC)로 알려져 있다(Kaper, 1996). 흥미롭게도 이번 연구 조사에서 *bfpA* 유전자는 검출되지 않았으며 81 분리주에서 *eae* 유전자만 검출되었다. 소의 분변에서 분리된 병원성 대장균에서 *eae* 유전자 검출률이 높지 않다는 많은 연구 보고(Hornitzky 등, 2005; Fremaux 등, 2006; Ryu 등, 2020)가 있어, 소에서 설사를 야기하는데 *eae*의 역할은 불명확하다는 연구 결과가 있다. 하지만 이번 연구조사에서 송아지 설사 분변에서 75%에서 *eae* 유전자가 검출되었으며, *eae*와 ETEC fimbria 유전자를 보유한 36 분리주 중에서 10 분리주(27.8%)는 STa 유전자를 보유하고 있었다. 또한 36 분리주 중 27 분리주(75%)는 시가 독소 유전자를 보유하고 있었으며 이 27 분리주 중 7 분리주는 STa도 같이 검출되었다. ETEC 펌브리얼 부착인자 없이 *eae* 유전자와 시가 독소나 시가 독소와 STa 독소 모두 또는 STa를 가지고 있는 경우도 29 분리주, 2 분리주 그리고 1 분리주에서 각각 검출되었다. 이상의 결과는 *eae*

**Table 5.** Profile of antimicrobial resistance in 108 pathogenic *Escherichia coli* isolates from diarrheic calves

Type	Number of resistant antimicrobial	Resistance pattern	Isolation	
			Number	Rate (%)
1	14	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAmcAzmFox	1	0.93
2	13	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAmcAzm	1	0.93
3	13	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAmcFox	1	0.93
4	13	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAzmFox	1	0.93
5	12	AmSTeEftSxtCipKCNaCroAmcAzm	1	0.93
6	12	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAmc	1	0.93
7	12	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGmAzm	6	5.54
8	11	AmSTeEftSxtCipKCCroGmAzm	1	0.93
9	11	AmSTeEftSxtCipKCCroGmFox	1	0.93
10	11	AmSTeEftSxtCipKCNaAmcAzm	1	0.93
11	11	AmSTeEftSxtCipKCNaCroAzm	1	0.93
12	11	AmSTeEftSxtCipKCNaCroGm	3	2.76
13	11	AmSTeEftSxtCipKCroGmAmcFox	1	0.93
14	10	AmSTeEftSxtCipKCNaCro	1	0.93
15	10	AmSTeEftSxtKCNaCroGm	1	0.93
16	10	AmTeEftSxtKCNaCroAmcFox	1	0.93
17	9	AmSEftSxtCipKCNaAmc	1	0.93
18	9	AmSEftSxtCipKCNaCro	1	0.93
19	9	AmSEftSxtCipNaCroAmcFox	1	0.93
20	9	AmSTeEftSxtCipKCNa	1	0.93
21	9	AmSTeEftSxtCipKNaCro	1	0.93
22	9	AmSTeEftSxtCipKNaGm	1	0.93
23	9	AmSTeSxtCipKCNaGm	2	1.83
24	8	AmSEftKCroGmAmcFox	1	0.93
25	8	AmSTeEftSxtCipCAmc	1	0.93
26	8	AmSTeEftSxtCipCCro	1	0.93
27	8	AmSTeEftSxtKCGm	1	0.93
28	8	AmSTeSxtCipCNaAmc	1	0.93
29	8	AmSTeSxtCipKCAmc	1	0.93
30	7	AmSEftCipKCroGm	1	0.93
31	7	AmSTeEftCipKC	1	0.93
32	7	AmSTeEftCipNaCro	1	0.93
33	7	AmSTeEftSxtKC	1	0.93
34	7	AmSTeSxtKCGm	1	0.93
35	7	AmSTeSxtKCNa	1	0.93
36	6	AmSEftSxtCipC	1	0.93
37	6	AmSTeEftCipK	1	0.93
38	6	AmSTeEftSxtK	2	1.83
39	6	AmSTeEftSxtNa	1	0.93
40	6	AmSTeSxtCAzm	1	0.93
41	6	AmSTeSxtCNa	1	0.93
42	6	STeEftSxtCipC	1	0.93
43	6	STeEftSxtKC	1	0.93
44	6	STeSxtKCAzm	1	0.93
45	5	AmEftCipCroAmc	1	0.93
46	5	AmEftCroAmcFox	1	0.93
47	5	AmSEftKC	1	0.93
48	5	AmSSxtKCGm	1	0.93
49	5	AmSTeCipC	3	2.76

Table 5. Continued

Type	Number of resistant antimicrobial	Resistance pattern	Isolation	
			Number	Rate (%)
50	5	AmSTeEftCip	1	0.93
51	5	AmSTeEftK	1	0.93
52	5	AmSTeSxtC	1	0.93
53	5	AmSTeSxtGm	1	0.93
54	5	AmTeKNaAzm	1	0.93
55	5	STeSxtCAzm	1	0.93
56	5	STeSxtKAmc	1	0.93
57	4	AmAmcAzmFox	1	0.93
58	4	AmEftCipCro	1	0.93
59	4	AmEftCroFox	1	0.93
60	4	AmSEftAmc	1	0.93
61	4	AmSEftCip	2	1.83
62	4	AmSEftK	2	1.83
63	4	AmSEftSxt	1	0.93
64	4	AmSTeC	1	0.93
65	4	AmSTeSxt	1	0.93
66	3	AmCipC	1	0.93
67	3	AmEftCip	1	0.93
68	3	AmSCip	1	0.93
69	3	AmSEft	1	0.93
70	3	AmSTe	3	2.76
71	3	CipNaGm	1	0.93
72	3	STeCip	2	1.83
73	3	STeEft	1	0.93
74	3	STeK	2	1.83
75	2	AmCip	1	0.93
76	2	AmEft	4	3.68
77	2	AmK	1	0.93
78	2	AmS	1	0.93
79	2	SK	1	0.93
80	1	Am	2	1.83
81	1	Amc	1	0.93
82	1	Eft	1	0.93
83	1	S	2	1.83
84	0		3	2.76
Total			108	100

도 송아지에서 설사에서 *eae*의 역할에 대한 연구가 필요함을 보여 주는 연구 결과라고 생각된다.

시가 독소 생성 대장균(STEC)은 송아지 설사 유발의 한 원인체로 인식되고 있으며, 이들 STEC 감염 동물은 사람에서 질병을 일으킬 수 있는 STEC의 보균자 역할을 한다(Armstrong 등, 1996; Wieler 등, 1996; Dean-Nystrom 등, 1997; Orden 등, 1998; Boerlin 등, 1999; Sandhu와 Gylea, 2002; Nguyen 등, 2011). 이번 연구에서 108 분리주 중 79 분리주(73.1%)에서 *stx* 유전자가 검출되어 40% 이상이 검출되었다는 브라질

(Arya 등, 2008), 인도(Salvadori 등, 2003) 및 베트남(Nguyen 등, 2011)에서의 보고와 일치하였다. 하지만 한국을 포함한 다른 나라에서는 낮은 비율로 검출되었다는 보고도 있다(Orden 등, 1998; Osek 등, 2000). 특히 한국에서의 보고는 2017년부터 2018년에 분리된 병원성 대장균을 대상으로 한 연구결과이며 이번 연구와 대조적인 결과로 앞으로 지속적인 모니터링이 필요함을 보여주는 결과이다.

전북지역 송아지 설사 분변에서 분리한 108 분리주를 대상으로 항생제 감수성 검사를 수행한 결과, 단지 1 분리주를 제외한

107 분리주는 이 실험에서 사용한 14 항생제에 대해 적어도 한 개 이상의 항생제에 대해 내성이 관찰되었으며, Am (82.4%), S (78.7%), Te (62.0%), Eft (60.2%), Sxt (50.9%), K (50.0%), Cip (50.0%)는 50% 이상의 분리주에서 내성이 관찰되었다. 국내 가축 분변에서 분리한 병원성 대장균의 항생제 내성률을 분석하여 보면, Am과 S 등 대부분의 항생제 내성이 Te과 함께 관찰된다는 보고가 있으며(Lim 등, 2014), 이를 통하여 다른 항생제를 오남용하거나 장기간 사용할 경우 항생제 내성을 획득할 경우가 생길 때에 인접한 Te 내성 유전자를 함께 획득할 가능성이 있을 수 있다는 연구 결과 보고가 있는데(Do 등, 2017) 이번 연구 결과에서도 Am, S와 함께 Te의 내성률이 높게 관찰되었다. WHO에서는 사람에서 항생제에 의한 치료의 중요성을 위해 항생제를 CIA (critically important antimicrobials), HIA (highly important antimicrobials), IA (important antimicrobials) 등 세 그룹으로 분류하고 있으며, 이 중에서 CIA는 최우선으로 관리가 필요한 항생제로 분류되며, 이는 제3세대 및 제4세대 cephalosporin계, fluoroquinolone계, macrolide계 항생제가 포함되어 있다[WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR), 2019]. 이번 연구 결과에서도 제3세대 cephalosporin계 항생제인 Eft (Ceftiofur)에 대해서는 무려 60.2%에서 내성이 관찰되었으며 Cro (Ceftriaxone)에 대해서는 30.6%에서 내성이 관찰되었다. 더불어 fluoroquinolone계 항생제인 Cip (Ciprofloxacin)에 대해서도 50.0%의 분리주에서 내성이 관찰되었으며, macrolide계 항생제인 Azm (Azithromycin)에 대해서는 16.7%의 분리주에서 항생제 내성이 관찰되었다. 이는 공중보건학적으로 매우 중요한 문제로 지속적인 항생제 내성률 변화를 주시할 필요성이 있는 중요한 결과라고 생각되며, 이런 종류의 항생제에 대한 사용 및 처방에 있어 신중한 관리가 필요하다고 생각되었다.

송아지 설사 분변에서 분리된 108 분리주에 대한 다제 내성 패턴을 조사하여 본 결과, 108 분리주 중 단 한 분리주를 제외한 107 분리주는 이 실험에서 사용한 14개의 항생제 중 적어도 한 가지 이상의 항생제에 대해 내성이 있는 것으로 관찰되었으며, 한 분리주는 이 실험에서 사용한 모든 항생제에 대해 내성이 관찰되었다. 그리고 10개 이상의 항생제에 내성이 관찰된 분리주는 무려 23 분리주(21.3%)에서 관찰되었으며 2개 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제 내성균주는 99 분리주(91.7%)에서 관찰되었다. 이 결과는 정 등(2020)이 2017년 전북지역 소 설사 유래 병원성 대장균에서 분리한 균주를 대상으로 실시한 항생제

감수성 결과 84.1%에서 두 가지 이상의 항생제에 대한 다제 내성이 관찰되었다는 보고보다 높게 관찰된 수치이다. 송아지 설사 원인 중에서 병원성 대장균에 의한 설사는 자주 발생하고 있으며, 높은 항생제 내성률과 더불어 다제 내성균의 증가는 송아지 설사 치료를 위한 항생제 선택에 어려움을 주고 있으며 동시에 공중보건학상 심각한 문제가 아닐 수 없다. 따라서 축산농가에서의 항생제 오남용을 막을 수 있는 광범위하고 지속적인 항생제 내성 패턴 조사와 올바른 항생제 사용을 위한 항생제 관리 체계를 위한 지속적인 연구가 필요하다.

## 결론

전북지역 송아지 설사 분변에서 분리한 병원성 대장균 108 분리주 중에서 29 분리주에서(26.8%) EPEC와 STEC 관련 병원성 인자를 동시에 보유하고 있었으며 다른 29 분리주는 ETEC와 EPEC 및 STEC 관련 병원성 인자를 동시에 보유하고 있었다. 또한 ETEC와 EPEC 또는 ETEC와 STEC과 같은 복합 병원성형을 보유한 균주도 각각 10 분리주(9.3%)씩 검출되었으며, EPEC, STEC, ETEC와 같은 다독 병원성형은 각각 12.0%, 10.2%, 5.6%에 불과하였다. 하지만 EAEC와 EIEC는 관찰되지 않았다. 병원성과 관련된 유전자를 조사하여본 결과, *eae* 유전자가 81 분리주에서 검출되어 가장 빈번하게 관찰되었으며, *stx1*은 55 분리주에서, F17과 *stx2* 유전자는 각각 48 분리주에서, *stx1*과 *stx2* 유전자를 동시에 보유한 균주는 30 분리주에서, STa 유전자는 21 분리주에서, F5는 19 분리주에서, F41 유전자는 1 분리주 각각 분리되었지만, *bfpA*, *aggR* 그리고 *ipaH* 유전자를 보유한 분리주는 검출되지 않았다. 특히 병원성 유전자형을 살펴보면, *eae*와 *stx1*, *eae* 단독, *eae*와 *stx1* 및 *stx2* 유전자를 동시에 가지고 있는 분리주는 각각 14 분리주, 13 분리주, 12 분리주에서 관찰되는 등 국내 송아지 설사에서 분리된 병원성 대장균은 전형 병원성형의 패턴을 보이는 경우보다 혼합된 형태의 다양한 비전형 병원성 유전자가 주로 검출되었다. 항생제 감수성 결과 50% 이상의 분리주에서 내성이 관찰된 항생제는 Am (82.4%), S (78.7%), Te (62.0%), Eft (60.2%), Sxt (50.9%), K (50.0%), Cip (50.0%) 순이었다. 두 가지 이상의 항생제에 대한 다제 내성균은 91.7%에서 관찰되었다. 이상의 결과를 종합해 보면 송아지에서 설사와 관련된 병원성 대장균의 병원성형 및 유전자형 그리고 항생제 내성에 대한 지속적인 조사연구와 올바른 항생제 사용에 대한 지도가 필요하다고 생각된다.



## 감사의 글

이 논문은 정부의 재원으로 농림식품기술기획평가원(Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture and Forestry, IPET)(No. 320070-2)과 전라북도 동물위생시험소 서부지소의 지원을 받아 연구되었습니다.

## CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## ORCID

Kil-Han Kwak, <https://orcid.org/0000-0002-1727-023X>

Seon-Min Kim, <https://orcid.org/0000-0002-6977-9820>

Yeong-Ju Yu, <https://orcid.org/0000-0002-2860-5023>

Jeong-Hee Yu, <https://orcid.org/0000-0003-3232-132X>

Mi-Na Lim, <https://orcid.org/0000-0001-9087-047X>

Yu-Jeong Jang, <https://orcid.org/0000-0003-2798-2238>

Jin Hur, <https://orcid.org/0000-0003-2658-0747>

## REFERENCES

Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG Jr. 1996. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol Rev* 18(1): 29-51.

Arya G, Roy A, Choudhary V, Yadav MM, Joshi CG. 2008. Serogroups, atypical biochemical characters, colicinogeny and antibiotic resistance pattern of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrhoeic calves in Gujarat, India. *Zoonoses Public Health* 55(2): 89-98.

Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP, Gyles CL. 1999. Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol* 37(3): 497-503.

Chae HS, Kim NH, Han HJ, Son HR, Kim CK, Kim SH, Lee JH, Kim JT. 2009. Characterization and isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from Bovine feces and Carcass. *Korean J Vet Serv* 32(3): 241-249.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. pp. CLSI informational Supplement M31-A3. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard. 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania.

Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. 2013. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 26(4): 822-880.

Dean-Nystrom EA, Bosworth BT, Cray WC Jr, Moon HW. 1997. Pathogenicity of *Escherichia coli* O157:H7 in the intestines of neonatal calves. *Infect Immun* 65(5): 1842-1848.

Do KH, Byun JW, Lee WK. 2017. Antimicrobial resistance of Stx2e positive *Escherichia coli* before and after ban on antibiotic growth promoters. *J Biomed Transl Res* 18(3): 84-92.

Fakih I, Thiry D, Duprez JN, Saulmont M, Iguchi A, Pierard D, Jouant L, Daube G, Ogura Y, Hayashi T, TAMINIAU b, mAINIL j. 2017. Identification of Shiga toxin-producing (STEC) and enteropathogenic (EPEC) *Escherichia coli* in diarrhoeic calves and comparative genomics of O5 bovine and human STEC. *Vet Microbiol* 202: 16-22.

Franck SM, Bosworth BT, Moon HW. 1998. Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from calves. *J Clin Microbiol* 36(6): 1795-1797.

Fremaux B, Raynaud S, Beutin L, Rozand CV. 2006. Dissemination and persistence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains on French dairy farms. *Vet Microbiol* 117(2-4): 180-191.

Griffin PM, Tauxe RV. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other

- enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* 13: 60-98.
- Guler L, Gunduz K, Ok U. 2008. Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from calves in Turkey. *Zoonoses Public Health* 55(5): 249-257.
- Han SM, Hong IP, Woo SO, Kim SG, Jang HR. 2015. Analysis of bee venom residues in milks of dairy cattle using UHPLC with newly developed pre-processing method. *Korean J Vet Serv* 38(1): 25-30.
- Han SM, Kim JM, Yeo JH, Hong IP, Woo SO, Lee KG, Kweon HY. 2014. Origin and effective ingredient standards of honeybee venom as natural antibiotic ingredients. *Korean J Vet Serv* 37(2): 123-129.
- Hays VW, Muir WM. 1979. Efficiency and safety of feed additive use of antibacterial drugs in animal production. *Can J Anim Sci* 59: 447-456.
- Hornitzky MA, Mercieca K, Bettelheim KA, Djordjevic SP. 2005. Bovine feces from animals with gastrointestinal infections are a source of serologically diverse atypical enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga toxin-producing *E. coli* strains that commonly possess intimin. *Appl Environ Microbiol* 71(7): 3405-3412.
- Hur J, Jeon BW, Kim YJ, Oh IG, Lee JH. 2013. *Escherichia coli* isolates from calf diarrhea in Korea and their virulent genetic characteristics. *J Vet Med Sci* 75(4): 519-522.
- Jeong H, Baek KJ, Koh WS, Lee JW, Jeong JK. 2020. Prevalence of enterovirulent *Escherichia coli* from diarrhea of cattles in Jeonbuk, Korea. *Korean J Vet Serv* 43(2): 53-58.
- Kaper JB. 1996. Defining EPEC. In: Proceedings of the international symposium on enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *Rev Microbiol* 27: 130-133.
- Kim ST, Kim S, Kim SY, Son JK. 1997. Comparison of fatty acid composition of *Staphylococcus* sp. isolated from bovine mastitis milk. *Korean J Vet Serv* 20(1): 37-45.
- Kolenda R, Burdukiewicz M, Schierack P. 2015. A systematic review and metaanalysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. *Front Cell Infect Microbiol*. 5: 23.
- Le Bouguenec C, Bertin Y. 1999. AFA and F17 adhesins produced by pathogenic *Escherichia coli* strains in domestic animals. *Vet Res* 30: 317-342.
- Lee JH, Hur J, Stein BD. 2008. Occurrence and characteristics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 and O111 in calves associated with diarrhea. *Vet J* 176(2): 205-209.
- Lim SK, Byun JR, Lee HS, Moon DC, Jang GC, Jung SC. 2014. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains isolated from pigs and their farm environment in Korea. *J Prev Vet Med* 38(3): 61-68.
- Lorenz I, Fagan J, More SJ. 2011. Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Ir Vet J* 64(1): 9.
- Moon HW, Hoffman LJ, Cornick NA, Booher SL, Bosworth BT. 1999. Prevalences of some virulence genes among *Escherichia coli* isolates from swine presented to a diagnostic laboratory in Iowa. *J Vet Diagn Invest* 11 (6): 557-560.
- Nagy B, Fekete PZ. 1999. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res* 30: 259-284.
- Nataro JP, Kaper JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 11: 142-201.
- Nguyen TD, Thanh T, Vu-Khac H. 2011. Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Vietnam. *J Vet Sci* 12(2): 159-164.
- Okhuysen PC, Dupont HL. 2010. Enteraggregative *Escherichia coli* (EAEC): a cause of acute and persistent diarrhea of worldwide importance. *J Infect Dis* 202: 503-505.
- Orden JA, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Cid D, García S, Sanz R, de la Fuente R. 1998. Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and *eae*-positive non-VTEC in 1-30-days-old diarrhoeic dairy calves. *Vet Microbiol* 63(2-4): 239-248.
- Osek J, Gallien P, Protz D. 2000. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains iso-

- lated from calves in Poland. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 23(4): 267-276.
- Ryu JH, Kim SH, Park JH, Choi KS. 2020. Characterization of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from pre-weaned calves in the Republic of Korea. *Acta Vet Scand* 62: 45.
- Salvadori MR, Valadares GF, Leite DS, Blanco J, Yano T. 2003. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Brazil. *Braz J Microbiol* 34(3): 230-235.
- Sandhu KS, Gyles CL. 2002. Pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the intestine of calves. *Can J Vet Res* 66(2): 65-72.
- Sethabutr O, Venkatesan M, Yam S, Pang LW, Smoak BL, Sang WK, Echeverria P, Taylor DN, Isenbarger DW. 2000. Detection of PCR products of the *ipaH* gene from *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by enzyme linked immunosorbent assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 37(1): 11-16.
- Shimizu M, Sakano T, Yamamoto J, Kitajima K. 1987. Incidence and some characteristics of fimbriae FY and 31A of *Escherichia coli* isolates from calves with diarrhea in Japan. *Microbiol Immunol* 31(5): 417-426.
- Toledo A, Gomez D, Cruz C, Carreon R, Lopez J, Giono S, Castro AM. 2012. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from piglets in the suckling and weaning period in Mexico. *J Med Microbiol* 61(1): 148-156.
- Van Bost S, Bâbe MH, Jacquemin E, Mainil J. 2001. Characteristics of necrotoxicogenic *Escherichia coli* isolated from septicemic and diarrheic calves between 1958 and 1970. *Vet Microbiol* 82(4): 311-320.
- Vu-Khac H, Cornick NA. 2008. Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. *Vet Microbiol* 126(4): 356-363.
- Vu-Khac H, Holoda E, Pilipcinec E, Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Mora A, Lopez C, Gonzalez EA, Blanco J. 2007. Serotypes, virulence genes, intimin types and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhoea in Slovakia. *Vet J* 174(1): 176-187.
- WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). 2019. Interpretation of categorization. pp. 13-40. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine: Ranking of medically important antimicrobials for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use. 6th Revision. World Health Organization, Geneva.
- Wieler LH, Vieler E, Erpenstein C, Schlapp T, Steinrück H, Bauerfeind R, Byomi A, Baljer G. 1996. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from bovines: association of adhesion with carriage of *eae* and other genes. *J Clin Microbiol* 34(12): 2980-2984.